

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FABRICIO STRUFALDI MAZZINI

**COMPARAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER EM  
PARALARVAS DE *OCTOPUS VULGARIS* E *ARGONAUTA NODOSA*  
(CEPHALOPODA: INCIRRATA)**

PONTAL DO PARANÁ – PR

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FABRICIO STRUFALDI MAZZINI

**COMPARAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER EM  
PARALARVAS DE *OCTOPUS VULGARIS* E *ARGONAUTA NODOSA*  
(CEPHALOPODA: INCIRRATA)**

Monografia apresentada como requisito à  
obtenção do título de Bacharel em  
Oceanografia, no Centro de Estudos do  
Mar, Setor de Ciências da Terra,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Érica Alves  
González Vidal

PONTAL DO PARANÁ – PR

2010

# TERMO DE APROVAÇÃO

**Fabrizio Strufaldi Mazzini**

**“Descrição comparativa dos órgãos de K lliker em paralarvas de  
*Octopus vulgaris* e *Argonauta nodosa* (Cephalopoda: Incirrata)”**

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de  
Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela  
Comissão formada pelos professores:

  
Dr. Luís Fernando Fávaro-Dep.Biologia celular/UFPR

  
Prof. Dr. Carlos Alberto Borzone-CEM/UFPR

  
Dr. José Eduardo Amoroso Marian-Instituto Biociências/USP/USP

  
Prof   Dr   Erica Alves González Vidal-CEM/UFPR  
Presidente

Pontal do Paraná, 17 de dezembro de 2010.

*“O que sabemos é uma gota, o que  
ignoramos é um oceano”  
(Isaac Newton)*

*"O mistério não é um muro onde a  
inteligência esbarra, mas um oceano  
onde ela mergulha"  
(Gustav Thibon)*

*Dedico esta monografia aos meus pais, Waldo e Claudia, que jamais mediram esforços para a realização dos meus sonhos e me ensinaram os grandes valores da vida, sempre com muito amor e carinho. Devo a vocês tudo o que aprendi e a pessoa que me tornei. Sou extremamente feliz e agradecido por tê-los em minha vida.*

**AMO VOCÊS!**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente aos meus pais, por tudo o que me ensinaram na vida, pelo apoio, dedicação, carinho e amor. Vocês são referências para a minha vida. Muito obrigado por tudo!

A minha irmã Fabiana, por sempre ter sido uma irmã tão carinhosa, preocupada e presente, mesmo morando fora do país. Te amo muito!

Aos meus avós Aldo, Dalila e Zoraide, que sempre dedicaram muito amor e carinho a mim, e são importantíssimos na minha vida. Amos vocês!

Ao meu avô já falecido, Armando, que ainda deixa muita saudade, e foi um exemplo de pessoa, responsável por muitos momentos de alegria para todos. Sinto sua falta!

Aos meus únicos tios Fábio e Renata, por serem pessoas tão divertidas e queridas.

Ao meu cunhado Larry, por ser uma pessoa incrível e fazer minha irmã tão feliz. Ao seu lado nós sabemos que ela está bem. Thank you!

A minha orientadora Prof. Dra. Érica Alves González Vidal, por ter aceitado a me orientar, pelo auxílio, sugestões e conselhos. Muito obrigado por me passar um pouco de sua experiência e sabedoria, pois foram fundamentais para a minha formação.

Aos professores do Departamento de Biologia Celular Dr. Luís Fernando Fávaro e Dra. Lucélia Donatti, pela indispensável ajuda com a histologia e microscopia eletrônica de varredura, respectivamente.

Aos meus grandes amigos Denis, Eduardo e Rafael Bet, responsáveis por muitas risadas e momentos agradáveis. Espero ainda tê-los presentes em muitos momentos da minha vida.

As minhas queridas amigas Thaís, Larissa, Andréia e Rita, também responsáveis por bons momentos durante estes 5 anos de faculdade. Vocês estão em meu coração.

A todos os demais amigos, não menos importantes, que estiveram presentes durante toda a minha trajetória. Obrigado!

A todos os professores e demais funcionários do Centro de Estudos do Mar, os quais desempenharam um papel de grande importância na minha formação acadêmica.

E também a Universidade Federal do Paraná, por me oferecer condições de me tornar um Oceanógrafo competente.

## RESUMO

Os polvos são considerados os invertebrados mais ativos e especializados, apresentando um sistema nervoso altamente desenvolvido, visão apurada e capacidade de aprendizado. O alto valor comercial destes animais fez com que se tornassem alvos de muitos estudos. Dentre as mais de 200 espécies, destacam-se *Argonauta nodosa* (Lightfoot, 1786), de hábito pelágico em águas oceânicas, e o polvo comum *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797), que é bentônico de regiões costeiras. Ambos apresentam paralarvas planctônicas, as quais possuem inúmeras estruturas ciliadas sobre a superfície do corpo chamadas de órgãos de Kölliker. A função destas estruturas microscópicas ainda é totalmente desconhecida, porém existem hipóteses que relacionam os órgãos de Kölliker à eclosão das paralarvas, locomoção no plâncton, flutuabilidade, e até disfarce contra predadores, através da reflexão da luz. Com o intuito de gerar informações e ampliar o conhecimento referente a estas estruturas, foi realizada uma comparação descritiva dos órgãos de Kölliker entre paralarvas de *A. nodosa* e *O. vulgaris*, através das técnicas de histologia e microscopia eletrônica de varredura. Foram observadas algumas diferenças nos órgãos de Kölliker tanto ao longo do desenvolvimento dentro de uma mesma espécie, quanto entre as duas espécies. Nos dois casos houve uma diminuição do diâmetro dos órgãos ao longo da ontogenia, e *A. nodosa* apresentou diâmetros dos tufo significativamente menores que *O. vulgaris*. Esta diferença interespecífica pode ser reflexo dos diferentes ambientes ocupados pelas espécies, nas quais os órgãos de Kölliker poderiam atuar distintamente. Além disso, a enorme abundância destas estruturas sobre o corpo das paralarvas fornece indícios de que desempenham um papel vital, e este, quando descoberto, possibilitará um melhor entendimento da ecologia e biologia destes animais, fatores fundamentais para o manejo e gerenciamento dos polvos no meio ambiente, além do desenvolvimento de tecnologias que permitam seu cultivo.

Palavras-chave: Paralarvas, órgãos de Kölliker, morfologia.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: A) DETALHE DO ÓRGÃO DE KÖLLIKER. B) MICROVILOSIDADE DA SUPERFÍCIE DO QUETOBLASTO. C) REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS PRINCIPAIS ESTRUTURAS CONSTITUINTES DO ÓRGÃO DE KÖLLIKER. FONTE: BROCCO <i>ET AL.</i> , 1974.....	5
FIGURA 2: CORTES HISTOLÓGICOS DE PARALARVAS DE <i>ARGONAUTA NODOSA</i> COM 1,0 MM DE CM (A) E <i>OCTOPUS VULGARIS</i> RECÉM ECLODIDO COM 1,8 MM DE CM (B), MOSTRANDO DIFERENÇAS NOS TECIDOS CONSTITUINTES DO TEGUMENTO. ABREVIÇÃO: O.K. (ÓRGÃO DE KÖLLIKER).....	10
FIGURA 3: IMAGEM DE MEV DE <i>ARGONAUTA NODOSA</i> COM 3,4 MM DE CM COM A SUPERFÍCIE DO CORPO BASTANTE DANIFICADA. ....	13
FIGURA 4: ÓRGÃOS DE KÖLLIKER NA SUPERFÍCIE DO MANTO DA PARALARVA DE <i>O. VULGARIS</i> COM 29/30 DIAS. PRESENÇA DE INÚMEROS TUFOS ABERTOS E FECHADOS. ....	13
FIGURA 5: POUCOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER OBSERVADOS NA REGIÃO VENTRAL DA CABEÇA DA PARALARVA COM CM DE 1,3 MM DE <i>ARGONAUTA NODOSA</i> . ....	14
FIGURA 6: GRANDE ABUNDÂNCIA DE ÓRGÃOS DE KÖLLIKER NAS PARALARVAS DE <i>OCTOPUS VULGARIS</i> . A) MANTO DO EXEMPLAR DE 29/30 DIAS E B) BRAÇO DE INDIVÍDUO COM 35/36 DIAS.....	15
FIGURA 7: DISTRIBUIÇÃO APARENTEMENTE HOMOGÊNEA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER SOBRE A SUPERFÍCIE DO MANTO DE <i>O. VULGARIS</i> COM 29/30 DIAS APÓS A ECLOSÃO.....	15
FIGURA 8: MEV DE NOVOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER SENDO PROJETADOS PARA FORA DA EPIDERMIS EM <i>O. VULGARIS</i> DE 7/8 DIAS (A) E 22/23 DIAS (B) APÓS A ECLOSÃO. C) CORTE HISTOLÓGICO DE UMA PARALARVA DE 15/16 DIAS MOSTRANDO UM ÓRGÃO QUE AINDA NÃO EMERGIU, AO LADO DE OUTRO JÁ EXPOSTO. ....	16
FIGURA 9: DEFORMAÇÕES NOS TUFOS DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER DE <i>O. VULGARIS</i> COM 15/16 DIAS. EXTREMIDADES “QUEBRADAS” (A) E DOBRADAS (B).....	17
FIGURA 10: BOXPLOT DA ANOVA DEMONSTRANDO DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE <i>A. NODOSA</i> DE 1,0, 1,3 E 5,2 MM DE CM ( $P < 0,05$ )... ..	18
FIGURA 11: BOXPLOT DA ANOVA DEMONSTRANDO DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE ALGUMAS IDADES DAS PARALARVAS DE <i>O. VULGARIS</i> ( $P < 0,05$ ).....	19
FIGURA 12: BOXPLOT DO TESTE-T DEMONSTRANDO DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS NO DIÂMETRO DOS TUFOS DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER ENTRE <i>ARGONAUTA NODOSA</i> E <i>OCTOPUS VULGARIS</i> ( $P < 0,05$ ). ....	20



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: ESPÉCIE, SEXO, COMPRIMENTO DO MANTO, FASE DE DESENVOLVIMENTO OU IDADE, MÉTODO DE ANÁLISE DAS AMOSTRAS E PRESENÇA OU AUSÊNCIA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER. ....	11
TABELA 2: LOCALIZAÇÃO DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER NAS PARALARVAS...	12
TABELA 3: TABELA DA ANOVA PARA <i>A. NODOSA</i> . ....	18
TABELA 4: TABELA DA ANOVA PARA <i>O. VULGARIS</i> . ....	19

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>7</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	7
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>8</b>
3.1 OBTENÇÃO DE PARALARVAS.....	8
3.1.1 <i>Argonauta nodosa</i> (Lightfoot, 1786) .....	8
3.1.2 <i>Octopus vulgaris</i> (Cuvier, 1797) .....	8
3.2 TRATAMENTO HISTOLÓGICO .....	8
3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	9
3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	9
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>10</b>
4.1 DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA.....	10
4.2 PRESENÇA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER .....	10
4.3 OBSERVAÇÕES DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	14
4.3.1 <i>Argonauta nodosa</i> .....	14
4.3.2 <i>Octopus vulgaris</i> .....	14
4.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER .....	17
4.4.1 <i>Argonauta nodosa</i> .....	17
4.4.2 <i>Octopus vulgaris</i> .....	18
4.4.3 <i>Argonauta nodosa</i> x <i>Octopus vulgaris</i> .....	20

<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>25</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os polvos são moluscos cefalópodes, da ordem Octopoda, considerados os invertebrados mais ativos e especializados. Estes animais apresentam certas características que podem ser comparadas às dos vertebrados mais desenvolvidos, entre as um sistema nervoso altamente desenvolvido, visão apurada e capacidade de aprendizado (DE GROOT, 1995). Devido ao seu alto valor comercial, o interesse nos polvos tem crescido nas últimas décadas, principalmente em relação ao seu cultivo (VAZ-PIRES, 2004).

A família Octopodidae é a mais numerosa dentre os cefalópodes, compreendendo mais de 200 espécies, incluindo o polvo comum, *Octopus vulgaris* (NIXON & YOUNG, 2003), considerado um dos recursos marinhos mais importantes do mundo e também uma das espécies de cefalópodes mais estudadas.

Acredita-se que esta espécie possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrada em águas tropicais, subtropicais e temperadas, nos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico. Porém, recentemente, alguns autores têm sugerido que esta distribuição pode ser restrita ao mar Mediterrâneo e leste do Atlântico (MANGOLD, 1997), e que *Octopus vulgaris* agrupa um complexo de espécies semelhantes (NORMAN, 2003).

Nas fases juvenil e adulto, esta espécie vive no ambiente bentônico, podendo ocorrer desde as áreas costeiras rasas até a quebra da plataforma continental, a cerca de 200 m de profundidade (MANGOLD-WIRZ, 1963). Preferencialmente, *Octopus vulgaris* habita recifes de corais e costões rochosos, mas também pode ser encontrado em fundos arenosos, lamosos ou em meio às algas (MANGOLD, 1983).

O ciclo de vida é normalmente curto, podendo variar de 12 a 18 meses, com uma taxa de crescimento bastante elevada (MANGOLD & BOLETZKY, 1973). Ao eclodirem, os pequenos polvos permanecem no plâncton de 45 a 60 dias, a uma temperatura média de 20 °C, até se tornarem bentônicos (VILLANUEVA, 1995). Durante esta transição, seus braços crescem significativamente em relação ao manto, dificultando a natação e favorecendo o assentamento (IGLESIAS *et al.*, 2007).

A cópula acontece através da introdução do hectocotilo do macho na cavidade do manto da fêmea (IGLESIAS *et al.*, 2000). O hectocotilo é um braço especializado (geralmente o terceiro braço direito) que transfere os espermatóforos,

que são pacotes de espermatozóides, os quais ficam armazenados dentro da fêmea após a cópula. Há, portanto, um leve dimorfismo sexual, pois além do hectocotilo, os machos possuem ventosas bem maiores que as das fêmeas nos segundos e terceiros braços (HANLON & MESSENGER, 1996). Após a fertilização dos ovos, uma única fêmea pode depositar de 200.000 a 500.000 ovos (IGLESIAS *et al.*, 2000).

Enquanto estudos sobre *Octopus vulgaris* são numerosos e diversificados, poucas informações sobre a ecologia e o ciclo de vida de *Argonauta nodosa* estão disponíveis. Devido ao modo de vida pelágico, existe grande dificuldade de captura desta espécie de polvo, fazendo com que sua distribuição e abundância sejam relativamente pouco conhecidas. (VIDAL *et al.*, 2010). Os *Argonauta* fazem parte da família Argonautidae, e se distribuem pelas águas oceânicas quentes e tropicais do Atlântico, Pacífico, Índico e Mar Mediterrâneo (MANGOLD & BOLETZKY, 1988), sendo encontrados principalmente na camada superficial (CLARKE & LU, 1975).

Esta espécie apresenta dimorfismo sexual acentuado, sendo que os machos são anões e planctônicos e raramente ultrapassam os 15 mm de comprimento do manto (CM), enquanto as fêmeas podem atingir até 100 mm de CM (WU, 1989). O terceiro braço esquerdo dos machos sofre uma modificação ao longo da maturação, e vai se enrolando até formar uma cápsula, também chamada hectocotilo. Este braço modificado, que abriga o espermatóforo, precisa estar bem desenvolvido para que seja introduzido e liberado, por autotomia, dentro da cavidade do manto da fêmea durante a cópula (GRZIMEK, 1972; WU, 1989). Uma única fêmea pode conter diversos hectocotilos dentro de sua cavidade do manto, revelando que as mesmas copulam com vários machos (E. A. G. Vidal, *comum. pessoal*), enquanto estes só podem fazê-lo uma única vez (NESIS, 1987). Após ser fecundada, a fêmea produz uma delicada concha calcária de aproximadamente 15 cm que recobre seu corpo. Secretada pelo primeiro par de braços, esta concha é utilizada para depositar seus milhares de ovos (GRZIMEK, 1972; WU, 1989), bem como para controlar sua flutuabilidade (FINN & NORMAN, 2010). A massa de ovos dentro da concha apresenta ovos em diferentes estágios de desenvolvimento e, à medida que os ovos vão se desenvolvendo, eles vão sendo liberados no plâncton (NIXON & YOUNG, 2003). Terminada a eclosão dos ovos, acredita-se que a fêmea morra (GRZIMEK, 1972; ROSENBLUM, 1995), fato que caracteriza a semelparidade nos polvos.

Dentre as diversas espécies de polvos conhecidas, algumas já assumem o hábito bentônico logo após a eclosão, sendo holobentônicas (VILLANUEVA, 1995). Porém, em outros casos, como em *Argonauta nodosa* e *Octopus vulgaris*, os pequenos polvos são muito pequenos e permanecem no plâncton após eclodirem, sendo denominados “paralarvas” (YOUNG & HARMAN, 1988). Este termo significa “falsa larva”, já que os cefalópodes possuem desenvolvimento direto e, ao eclodirem, se assemelham aos adultos. O tempo de permanência no plâncton pode variar de acordo com a espécie e a temperatura (VILLANUEVA & NORMAN, 2008). Embora *A. nodosa* e *O. vulgaris* tenham paralarvas planctônicas, as mesmas ocupam ambientes bem distintos. Enquanto *Argonauta* distribui-se preferencialmente sobre a plataforma externa e regiões oceânicas, geralmente ambientes mais estáveis, *O. vulgaris* ocorre em águas costeiras rasas, sujeitas a maiores variações de temperatura, salinidade e marés.

Grande parte do conhecimento disponível sobre a biologia e ecologia das paralarvas dos Octopoda vem de estudos realizados com *Octopus vulgaris* e *Enteroctopus dofleini*, provavelmente por serem espécies economicamente bem valorizadas e ocorrerem próximas aos grandes centros de pesquisas científicas. Uma importante revisão sobre a biologia da fase planctônica dos polvos foi feita por Villanueva & Norman (2008), porém ainda muito pouco se conhece sobre esta importante fase do ciclo de vida de muitas espécies de polvos.

Na superfície do corpo das paralarvas dos polvos da subordem Incirrata existem inúmeras estruturas ciliadas em formato de “tufos”, denominadas “órgãos de Kölliker”. Descritas pela primeira vez por Kölliker (1844) em embriões de argonautas, estas estruturas encontram-se distribuídas sobre o manto, cabeça, braços e sifão das paralarvas.

Os órgãos de Kölliker são compostos por três partes: um folículo ectodérmico de células especializadas (um quetoblasto basal e várias células foliculares laterais); um fascículo extracelular de cerdas canulares, também chamado de “tufo de Kölliker”; e um grupo de músculos mesodérmicos (BOLETZKY, 1973; BROCCO *et al.*, 1974) (FIGURA 1). Os órgãos de Kölliker se desenvolvem dentro do folículo fechado e, posteriormente, auxiliados pelos músculos mesodérmicos, se projetam para a superfície da epiderme, ficando expostos (FIORONI, 1962; BROCCO *et al.*, 1974). Os tufos possuem um comprimento de aproximadamente 50 µm e com diâmetro basal de 13 µm, sendo formados por cerca de 1.500 cerdas canulares

distalmente afiladas. As cerdas apresentam diâmetro de 350 nm cada e são compostas por filamentos longitudinalmente orientados. A célula que mais se destaca no folículo é o quetoblasto, o qual possui uma superfície apical côncava, núcleo achatado e características de célula secretora, como retículo endoplasmático rugoso abundante, complexo de Golgi, mitocôndrias e elementos vesiculares. A superfície do quetoblasto é coberta por aproximadamente 1.500 microvilosidades, cada uma penetrando uma das cerdas do fascículo. As microvilosidades contêm um pacote de filamentos que se estendem profundamente no interior do citoplasma, além de possuírem muitos ribossomos e pequenas vesículas. As células foliculares laterais são semelhantes ao quetoblasto, porém não possuem as microvilosidades na superfície. Na base de cada folículo existe um arranjo de várias camadas com fibras musculares obliquamente estriadas, as quais provavelmente auxiliam na projeção e retração do tufo, bem como na abertura e espaçamento das cerdas (BOLETZKY, 1966, 1973; BROCCO *et al.*, 1974).

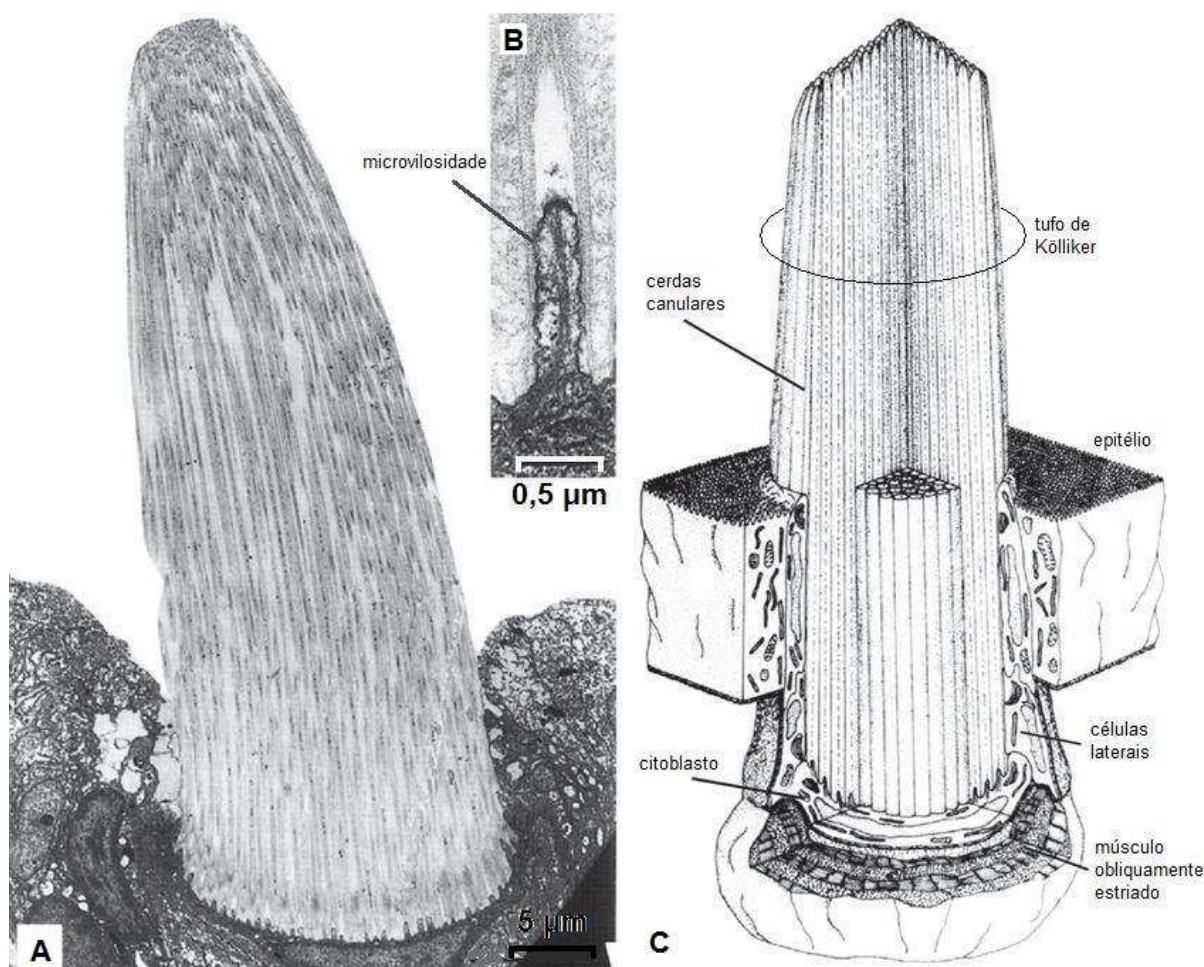


FIGURA 1: A) Detalhe do órgão de Kölliker. B) Microvilosidade da superfície do quetoblasto. C) Representação esquemática das principais estruturas constituintes do órgão de Kölliker. Fonte: Brocco *et al.*, 1974.

Os órgãos de Kölliker são estruturas transitórias que desaparecem num período de aproximadamente 30 a 60 dias após a eclosão, quando as paralarvas abandonam o ambiente planctônico e se tornam bentônicas (BOLETZKY, 1973). Não existem registros da presença destas estruturas em polvos bentônicos juvenis, pré-adultos ou adultos, e também não se sabe como os órgãos de Kölliker se transformam e/ou degeneram na epiderme dos polvos após o assentamento. Entretanto, Villanueva (1995) registrou imagens de paralarvas de *Octopus vulgaris* cultivadas em laboratório, desde a eclosão até o assentamento, e observou que ocorre uma adição de novos órgãos durante toda a fase planctônica.

Uma vez que os órgãos de Kölliker são abundantes em várias espécies de polvos, a grande dúvida que existe a respeito destas estruturas se refere à sua função, que ainda permanece totalmente desconhecida. Porém, algumas hipóteses



foram propostas para explicar sua funcionalidade. Inicialmente, Naef (1923) propôs que estas estruturas poderiam compor a base da formação de estruturas mais complexas do tegumento dos polvos juvenis e adultos, e também auxiliar a paralarva na locomoção no plâncton. Posteriormente, Adam (1939) observou a presença dos órgãos de Kölliker em juvenis dos polvos pelágicos *Bolitaena* e *Eledonella*, indicando que estas estruturas tenham uma função relacionada à vida pelágica. Também foi sugerido que, devido à orientação das cerdas (oblíqua, direcionada à região anterior), os órgãos evitariam que o embrião retornasse para dentro do ovo durante a eclosão (BOLETZKY, 1966; MANGOLD *et al.*, 1971). Além disso, os movimentos de projeção e retração dos tufo, observados *in vivo* em *Eledone moschata*, levaram Boletzky (1973) a sugerir que os órgãos de Kölliker expandidos poderiam reduzir a taxa de afundamento das paralarvas quando as mesmas não estivessem nadando ativamente. Brocco *et al.*, (1974), utilizando microscopia de luz polarizada, apresentaram dados bastante precisos acerca das propriedades refrativas dos órgãos de Kölliker. Verificado também por Villanueva (1995), através de observação em microscópio binocular, notou-se que as cerdas dos tufo brilhavam com a incidência luminosa, sugerindo que a reflexão da luz poderia ser um mecanismo de disfarce das paralarvas contra predadores na coluna d'água. Por fim, Green (1973), Kubodera & Okutani (1981), Hochberg *et al.* (1992), Diekmann *et al.* (2002) e Ortiz *et al.* (2006) notaram que existe uma película fina e transparente que recobre todo o corpo das paralarvas de algumas espécies de polvos, e que esta película também desaparece ao final da fase planctônica. Por esta razão, foi também sugerido que a grande quantidade de órgãos de Kölliker presente no corpo das paralarvas poderia atuar na “ancoragem” dessa película à superfície do corpo do animal (VILLANUEVA & NORMAN, 2008).

Neste contexto, este trabalho tem por objetivo gerar informações referentes à morfologia dos órgãos de Kölliker, que possam ampliar o conhecimento sobre estas estruturas, fundamentais para a compreensão da ecologia e biologia das paralarvas dos Octopoda.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever e comparar a estrutura morfológica e a ultraestrutura dos órgãos de Kölliker ao longo do desenvolvimento de paralarvas de *Argonauta nodosa* e *Octopus vulgaris*, através de microscopia óptica e eletrônica de varredura.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar a ocorrência, morfologia e padrão de distribuição dos órgãos de Kölliker em machos e fêmeas de *Argonauta nodosa*, ao longo do desenvolvimento (desde o estágio de paralarva ao juvenil e adulto), utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV);

Investigar a ocorrência, morfologia e padrão de distribuição dos órgãos de Kölliker em paralarvas de *Octopus vulgaris*, ao longo do primeiro mês do ciclo de vida, utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura (MEV);

Comparar a morfologia, diâmetro e padrão de distribuição dos órgãos de Kölliker de *A. nodosa* e *O. vulgaris*;

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO DE PARALARVAS

##### 3.1.1 *Argonauta nodosa* (Lightfoot, 1786)

As paralarvas, juvenis e adultos de *Argonauta nodosa* foram coletadas durante vários cruzeiros realizados entre 1986 e 2010, em arrastos de plâncton na costa sul e sudeste do Brasil, com rede tipo Bongo, de 60 cm de diâmetro e 300 µm de malha. Posteriormente à coleta, os exemplares foram fixadas em formol 4% neutralizado em água do mar, para a análise e obtenção dos dados.

##### 3.1.2 *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797)

As paralarvas de *Octopus vulgaris* foram obtidas através de cultivo realizado no Instituto Espanhol de Oceanografia (IEO) em Vigo, na Espanha, entre 15 de março e 19 de abril de 2010. Foram cultivadas em tanques circulares pretos, de 85 cm de diâmetro e volume de 500 l. A densidade foi de 10 indivíduos l<sup>-1</sup> (5000 paralarvas por tanque). A temperatura média foi mantida entre 21 – 22 °C e a salinidade oscilou entre 34 – 35. Uma iluminação contínua de 800 – 1000 lux foi fornecida a cada tanque através de duas lâmpadas fluorescentes de 36 W.

As paralarvas foram coletadas ao acaso nos tanques de cultivo nos dias 0, 4, 7/8, 15/16, 22/23, 29/30 e 35/56 após a eclosão, fixadas em formol 4% neutralizado, e enviadas pelo correio para a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Érica Vidal, Laboratório de Cultivo de Cefalópodes e Ecologia Experimental do Centro de Estudos do Mar, da Universidade Federal do Paraná.

#### 3.2 TRATAMENTO HISTOLÓGICO

Após a fixação, as paralarvas foram armazenadas em álcool 70% para serem submetidas ao processamento histológico de rotina. O material foi desidratado em série crescente de álcool, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Os cortes na

espessura de 7µm foram corados com Hematoxilina-Eosina e Tricrômico de Masson e, posteriormente, analisados em microscopia de luz.

### 3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As amostras de *Octopus vulgaris* e *Argonauta nodosa*, armazenadas em álcool 70%, passaram pelo processo de desidratação em série alcoólica crescente. O ponto crítico foi obtido em um Bal-Tec CPD 030 com gás carbônico, e a metalização em ouro foi realizada em um Balzers SCD 030. As imagens e análises dos materiais foram feitas no microscópio eletrônico de varredura JEOL-JSM 6360 LV do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

### 3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Medições dos diâmetros de 20 tufos fechados dos órgãos de Kölliker foram obtidas aleatoriamente de imagens de lâminas histológicas e de microscopia eletrônica de 3 paralarvas de *A. nodosa* e 7 paralarvas de *O. vulgaris*. O diâmetro de cada tufo fechado foi medido na altura em que o mesmo se projeta através da superfície da epiderme, com o auxílio do software Scion Image 4.0.3.2. Os valores dos diâmetros obtidos foram inseridos em uma planilha do Microsoft Office Excel 2007 e os testes estatísticos foram realizados no software R 2.9.0.

Análise de Variância (Anova) foi utilizada para comparar as médias dos diâmetros dos tufos em três exemplares de *Argonauta nodosa*, bem como para comparar as médias dos diâmetros dos tufos de *O. vulgaris* entre as idades 0, 4, 7/8, 15/16, 22/23, 29/30 e 35/36 dias após a eclosão. A normalidade e homocedasticidade, pressupostos da Anova, foram analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. O teste de Tukey foi aplicado para verificar entre quais amostras ocorreram diferenças significativas.

Para comparar os diâmetros dos tufos de Kölliker entre *A. nodosa* e *O. vulgaris*, foi realizado um teste-t simples.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA

O tegumento dos polvos é constituído externamente por um tecido epitelial de revestimento associado a um tecido conjuntivo frouxo, o qual por sua vez encontra-se aderido ao tecido muscular. Os órgãos de Kölliker estão inseridos na base do epitélio e projetam-se para o ambiente, podendo ser encontrados na região do manto, cabeça, olhos e braços. Aparentemente, a parede muscular e o tecido de revestimento em *Argonauta nodosa* são relativamente mais delgados (FIGURA 2A), e poucos órgãos de Kölliker estão presentes na superfície do tegumento. Por sua vez, as paralarvas de *Octopus vulgaris* apresentam tecido muscular e camada epitelial de revestimento relativamente mais espessos (FIGURA 2B), e com grande número de órgãos inseridos.

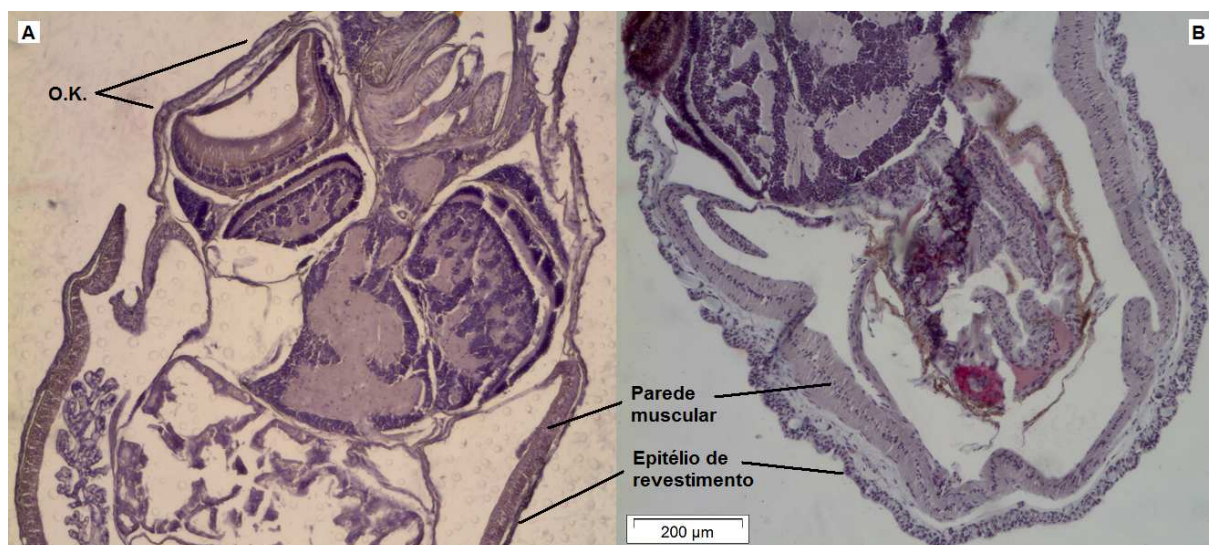


FIGURA 2: Cortes histológicos de paralarvas de *Argonauta nodosa* com 1,0 mm de CM (A) e *Octopus vulgaris* recém eclodido com 1,8 mm de CM (B), mostrando diferenças nos tecidos constituintes do tegumento. Abreviação: O.K. (órgão de Kölliker).

### 4.2 PRESENÇA DOS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER

A observação das imagens permitiu que fosse identificada a presença de órgãos de Kölliker em *Argonauta nodosa* com CM de 1,0 mm e 2,8 mm, por meio da análise histológica, e 1,3 mm e 5,2 mm, com o emprego de MEV (TABELA 1).

Também foram observados órgãos em todas as paralarvas de *Octopus vulgaris* analisadas, cujos CM foram 1,8 mm (0 dia), 2,0 mm (4 dias), 2,3 mm (7/8 dias), 2,6 mm (15/16 dias), 2,7 mm (22/23 dias), 2,9 mm (29/30 dias) e 3,0 mm (35/36 dias), utilizando ambos os métodos de análise (TABELA 1).

TABELA 1: Espécie, sexo, comprimento do manto, fase de desenvolvimento ou idade, método de análise das amostras e presença ou ausência dos órgãos de Kölliker.

Espécie	Sexo	Comprimento do manto (CM)	Fase de desenvolvimento ou idade	Método de análise	Presença de O. Kölliker
<i>Argonauta nodosa</i>	Indefinido	1,0 mm	Paralarva	Histologia	Sim
	Indefinido	1,3 mm	Paralarva	MEV	Sim
	Macho	1,8 mm	Paralarva	Histologia	Não
	Fêmea	2,8 mm	Juvenil	Histologia	Sim
	Fêmea	3,4 mm	Juvenil	MEV	Não
	Fêmea	4,7 mm	Juvenil	Histologia	Não
	Macho	4,7 mm	Adulto	Histologia	Não
	Macho	5,2 mm	Adulto	MEV	Sim
	Macho	5,5 mm	Adulto	Histologia	Não
	Macho*	5,7 mm	Adulto	MEV	Não
	Fêmea**	103,5 mm	Adulta	Histologia/MEV	Não
<i>Octopus vulgaris</i>	Indefinido	1,8 mm	0 dias	Histologia/MEV	Sim
	Indefinido	2,0 mm	4 dias	MEV	Sim
	Indefinido	2,3 mm	7/8 dias	Histologia/MEV	Sim
	Indefinido	2,6 mm	15/16 dias	Histologia/MEV	Sim
	Indefinido	2,7 mm	22/23 dias	MEV	Sim
	Indefinido	2,9 mm	29/30 dias	Histologia/MEV	Sim
	Indefinido	3,0 mm	35/36 dias	MEV	Sim

\*macho adulto com o hectocotilo evertido

\*\*amostra do manto de uma fêmea que apresentava concha contendo ovos

TABELA 2: Localização dos órgãos de Kölliker nas paralarvas.

Estrutura	Presença dos órgãos de Kölliker nas paralarvas	
	<b><i>A. Nodosa</i></b>	<b><i>O. Vulgaris</i></b>
Manto	Sim	Sim
Cabeça	Sim	Sim
Sifão	Não	Não
Braços	Sim	Sim
Olhos	Sim	Sim

As demais amostras de *A. nodosa* não apresentaram os órgãos visíveis, provavelmente por estarem com a epiderme bastante danificada, como se observa na Figura 3. Dentre os exemplares de *A. nodosa* e *O. vulgaris* que apresentaram as estruturas em questão, observou-se a ocorrência tanto de tufo aberto quanto fechado (FIGURA 4).

No geral, os órgãos de Kölliker foram encontrados sobre a superfície do manto, cabeça, braços e olhos das duas espécies estudadas (TABELA 2). Não foi possível visualizar os tufo apenas no sifão das paralarvas, pois nenhuma imagem apresentou a região ventral adequadamente focalizada.

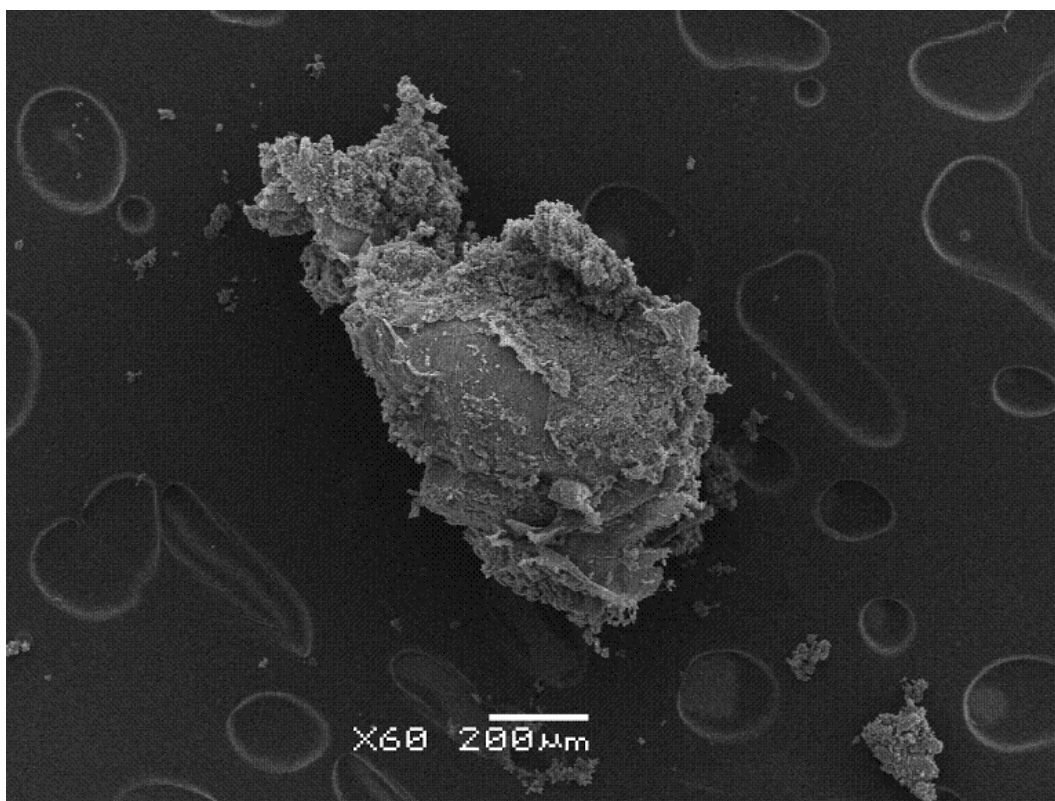


FIGURA 3: Imagem de MEV de *Argonauta nodosa* com 3,4 mm de CM com a superfície do corpo bastante danificada.

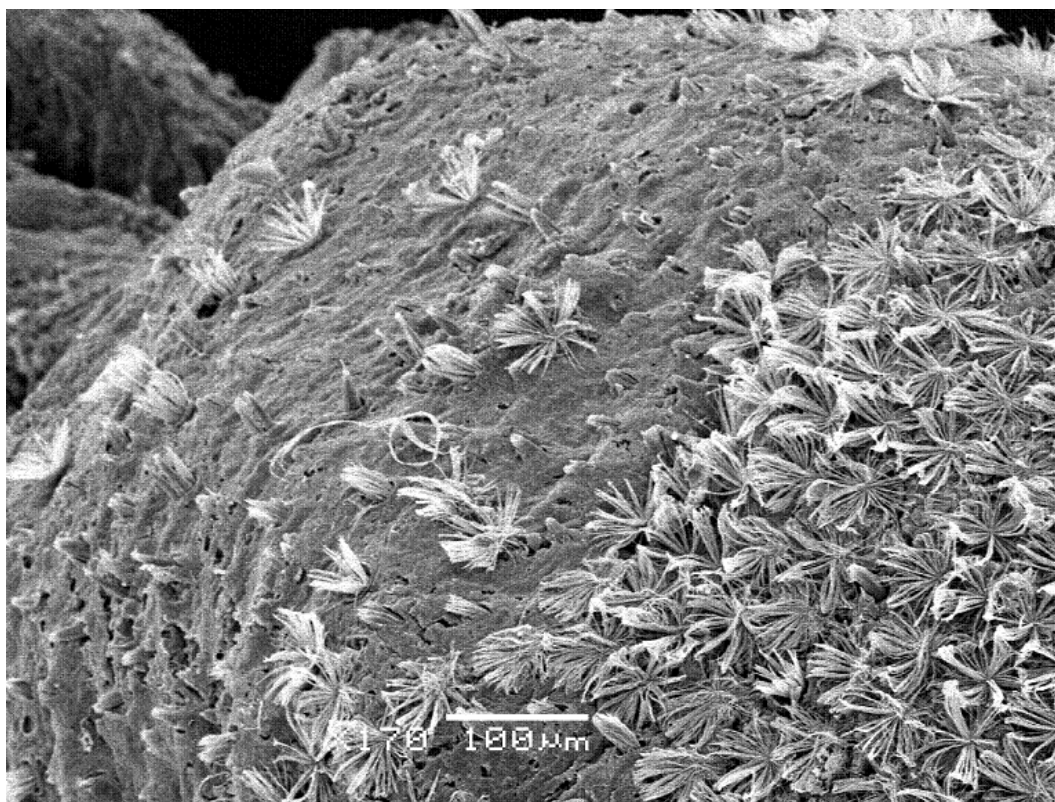


FIGURA 4: Órgãos de Kölliker na superfície do manto da paralarva de *O. vulgaris* com 29/30 dias. Presença de inúmeros tufos abertos e fechados.



### 4.3 OBSERVAÇÕES DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

#### 4.3.1 *Argonauta nodosa*

Em *A. nodosa*, foram observados poucos órgãos de Kölliker nas paralarvas com CM de 1,0 e 1,3 mm (FIGURA 5) e na fêmea juvenil de 2,8 mm. No macho adulto com 5,2 mm de CM, porém, os órgãos de Kölliker apresentaram-se ainda mais escassos. Tais estruturas foram encontradas no manto, cabeça, olhos e braços dos exemplares.

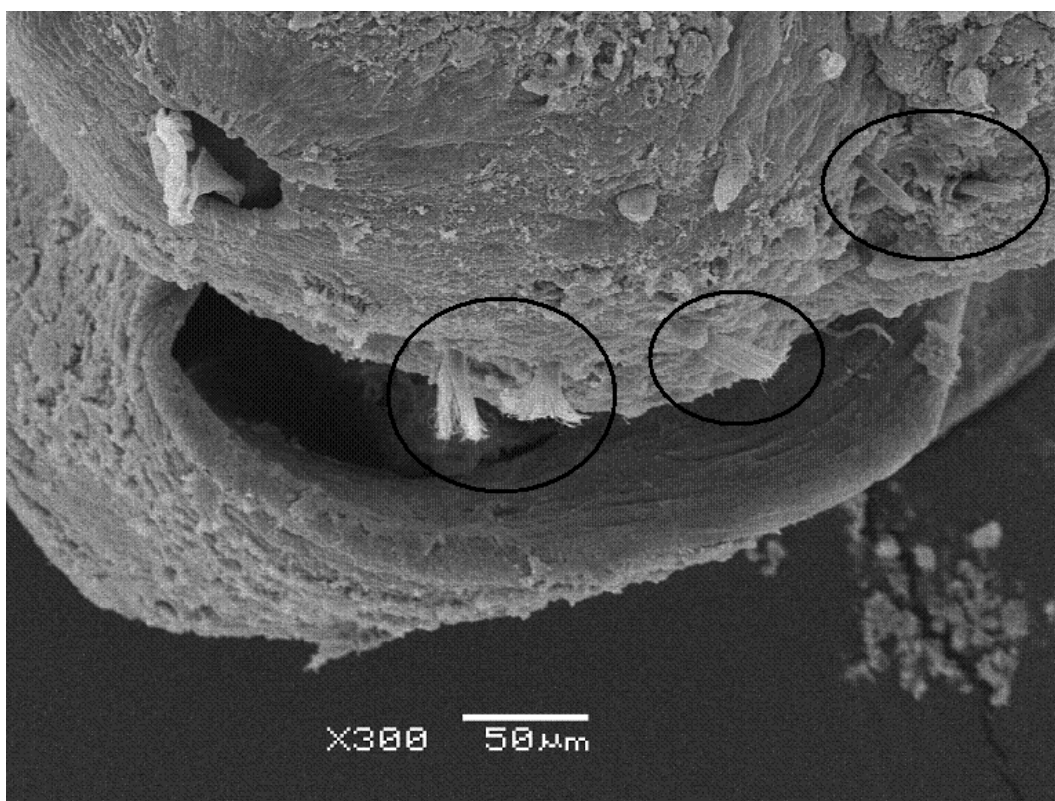


FIGURA 5: Poucos órgãos de Kölliker observados na região ventral da cabeça da paralarva com CM de 1,3 mm de *Argonauta nodosa*.

#### 4.3.2 *Octopus vulgaris*

Em *Octopus vulgaris*, a quantidade de órgãos de Kölliker sobre o corpo das paralarvas foi muito abundante, ocorrendo ao longo dos braços (FIGURA 6B), olhos, cabeça e, principalmente, manto (FIGURA 6A). Os tufo

homogeneamente e de forma eqüidistante sobre o corpo das paralarvas (FIGURA 7).

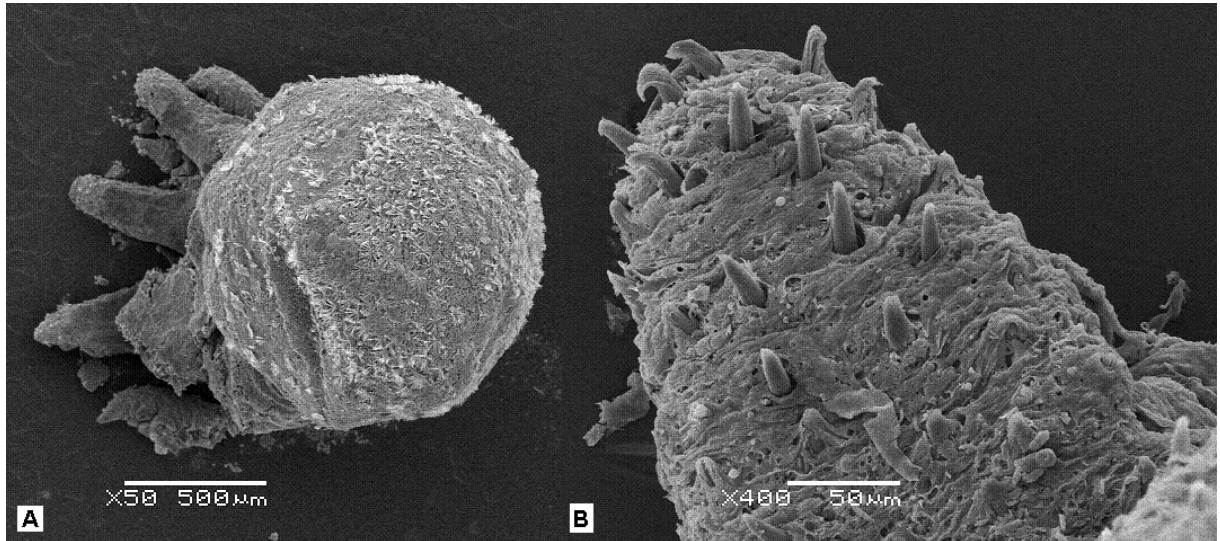


FIGURA 6: Grande abundância de órgãos de Kölliker nas paralarvas de *Octopus vulgaris*. A) Manto do exemplar de 29/30 dias e B) Braço de indivíduo com 35/36 dias.

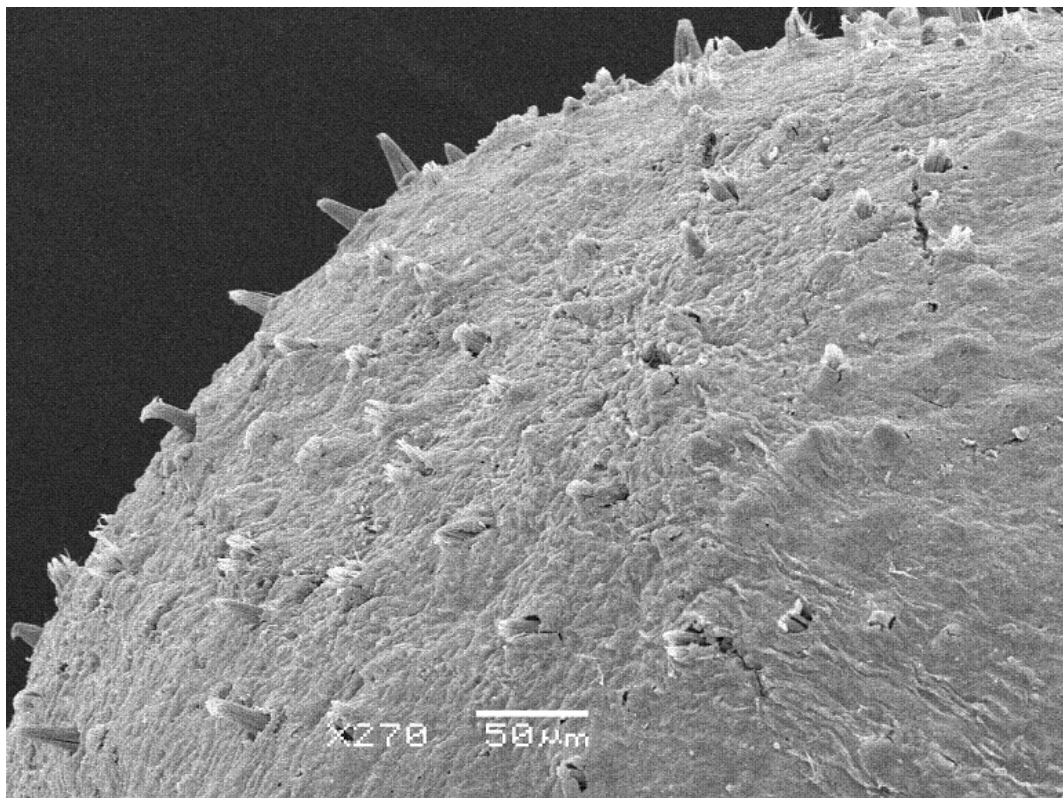


FIGURA 7: Distribuição aparentemente homogênea dos órgãos de Kölliker sobre a superfície do manto de *O. vulgaris* com 29/30 dias após a eclosão.

De acordo com as imagens de MEV das paralarvas de *O. vulgaris*, observou-se que vários órgãos de Kölliker projetam-se para fora da epiderme aparentemente rompendo o tecido epitelial (FIGURA 8A, B), fato que indica o crescimento de novos órgãos com o passar da idade dos pequenos polvos. Isto também foi observado em algumas lâminas histológicas, nas quais os órgãos novos ainda não haviam emergido através da epiderme (FIGURA 8C). Tais observações indicam que novos tufos surgem e projetam-se permanentemente durante a fase planctônica de *O. vulgaris*, embora a abundância aparenta ser constante.

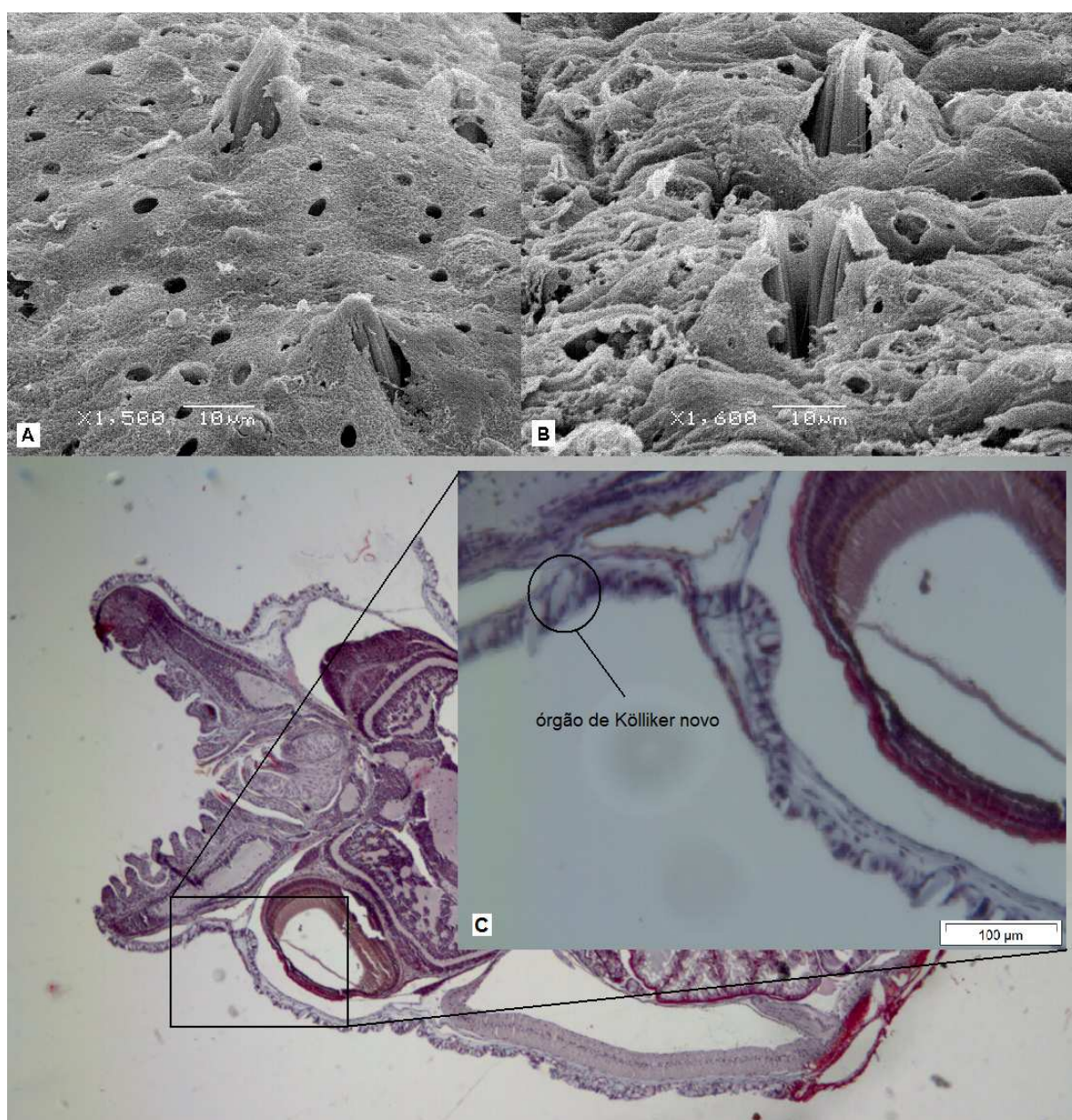


FIGURA 8: MEV de novos órgãos de Kölliker sendo projetados para fora da epiderme em *O. vulgaris* de 7/8 dias (A) e 22/23 dias (B) após a eclosão. C) Corte histológico de uma paralarva de 15/16 dias mostrando um órgão que ainda não emergiu, ao lado de outro já exposto.



Foi observado em paralarvas de *Octopus vulgaris* com idade superior a 15 dias que muitos órgãos de Kölliker presentes nos braços e manto estavam deformados, isto é, suas extremidades estavam curvadas ou até facetadas (FIGURA 9). O mesmo não foi visto para *Argonauta nodosa*.

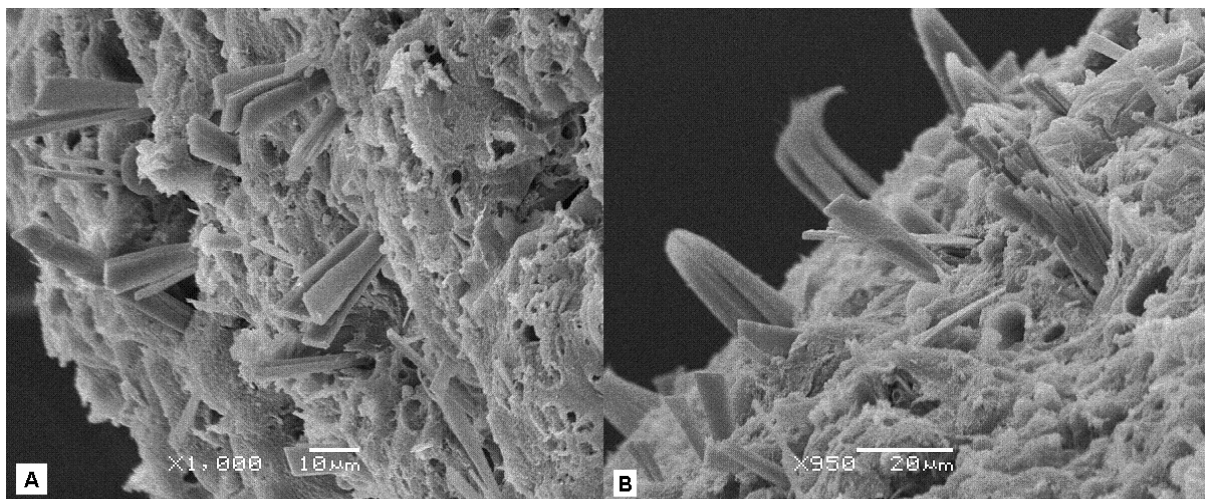


FIGURA 9: Deformações nos tufos dos órgãos de Kölliker de *O. vulgaris* com 15/16 dias. Extremidades “quebradas” (A) e dobradas (B).

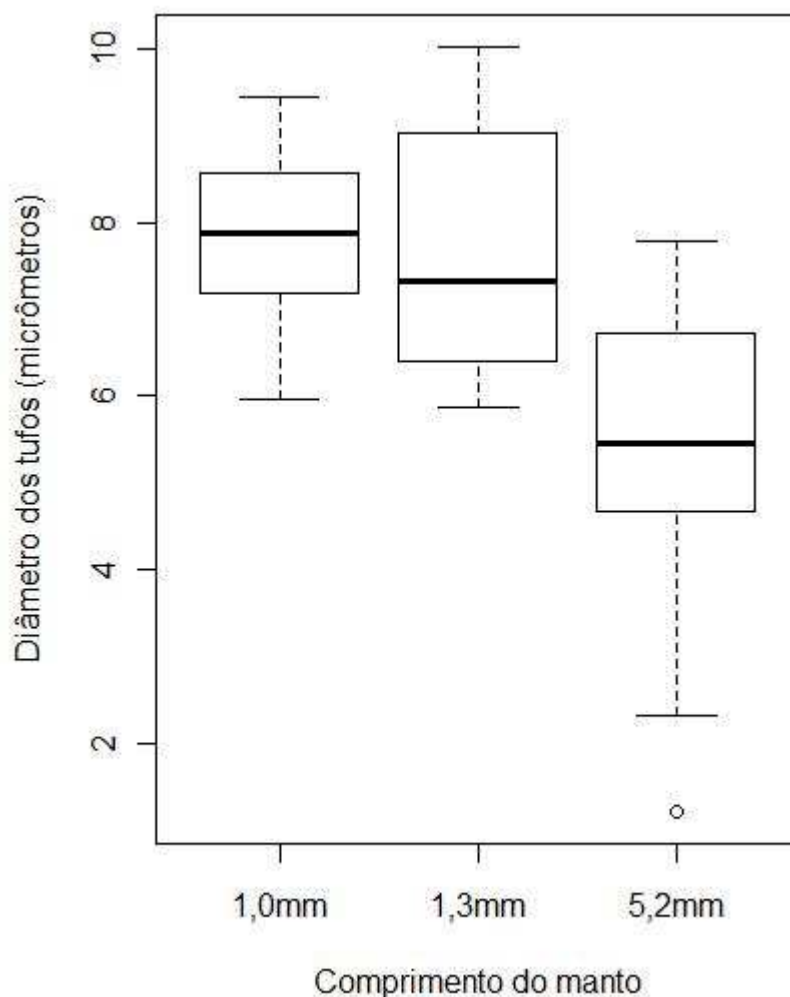
#### 4.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS ÓRGÃOS DE KÖLLIKER

##### 4.4.1 *Argonauta nodosa*

Os valores das medições dos diâmetros dos tufos em *A. nodosa* tiveram sua normalidade e homocedasticidade analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente, não apresentando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). Uma vez satisfeitos estes pressupostos, o resultado da Anova revelou que existem diferenças significativas entre as médias dos diâmetros dos tufos ( $F = 18,665$ ;  $p < 0,05$ ) (TABELA 3) dos três exemplares de *Argonauta* analisados, no qual o macho com CM de 5,2 mm apresentou diâmetro médio dos órgãos de Kölliker menor que os demais (FIGURA 10). O exemplar com CM de 2,8 mm não entrou na análise, pois não foram verificados órgãos em quantidade suficiente para as 20 medições.

TABELA 3: Tabela da Anova para *A. nodosa*.

Fonte de variação	GL	SQ	MQ	F	<i>p</i> valor
Tamanho	2	72,454	36,227	18,665	$5,822 \cdot 10^{-7}$
Resíduos	57	110,635	1,941		

FIGURA 10: Boxplot da Anova demonstrando diferenças significativas entre *A. nodosa* de 1,0, 1,3 e 5,2 mm de CM ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.2 *Octopus vulgaris*

Os valores de diâmetros dos tufo em *O. vulgaris* tiveram sua normalidade e homocedasticidade analisadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente, os quais revelaram que os dados foram normais ( $p > 0,05$ ), porém não homogêneos ( $p < 0,05$ ). Para atingir a normalidade, os dados foram transformados aplicando-se o logaritmo, porém os mesmos continuaram

heterocedásticos. Segundo Underwood (1997), a Anova deve prosseguir mesmo se os valores não apresentarem homocedasticidade, pois não existe um teste não paramétrico que possa ser aplicado em substituição à análise de variância. Sendo assim, o resultado da Anova revelou diferenças significativas ( $F = 29,117$ ;  $p < 0,05$ ) (TABELA 4) entre as médias dos diâmetros dos tufos das diferentes idades, na qual a paralarva recém eclodida (dia 0) apresentou os maiores diâmetros dos tufos, seguida pela paralarva com 15/16 dias após a eclosão (FIGURA 11). De acordo com o teste de Tukey, existem diferenças significativas entre a paralarva de 0 dias e as demais, entre a paralarva de 15/16 dias e as demais, exceto com a de 35/36 dias, e entre a paralarva de 35/36 dias e as de 4 e 7/8 dias. O restante das idades não difere significativamente entre si.

TABELA 4: Tabela da Anova para *O. vulgaris*.

Fonte de variação	GL	SQ	MQ	F	$p$ valor
Idade	6	414,09	69,014	29,117	$2,2 \cdot 10^{-16}$
Resíduos	133	315,25	2,370		

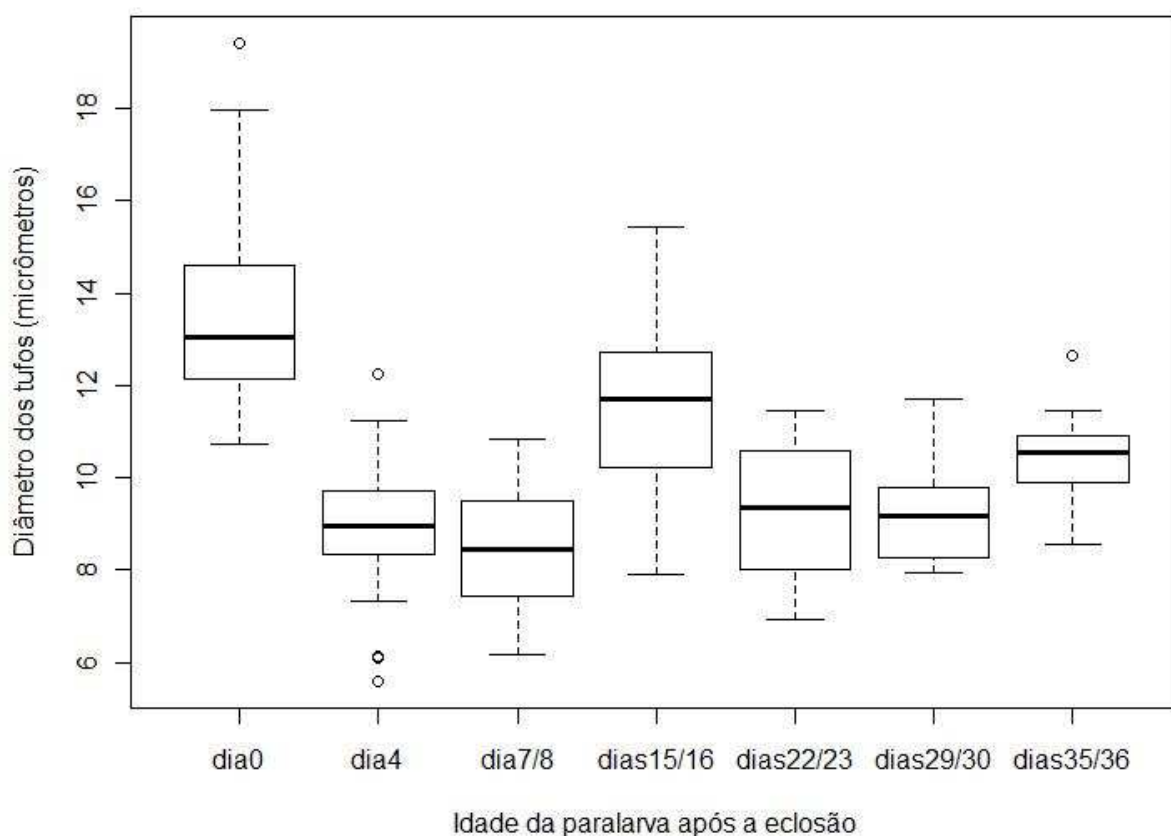


FIGURA 11: Boxplot da Anova demonstrando diferenças significativas entre algumas idades das paralarvas de *O. vulgaris* ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.3 *Argonauta nodosa* x *Octopus vulgaris*

Para analisar a diferença nas médias dos diâmetros dos tufos entre as duas espécies de polvos, as quais foram 7,0  $\mu\text{m}$  para *A. nodosa* e 10,2  $\mu\text{m}$  para *O. vulgaris*, foi realizado um teste-t que mostrou um p-valor muito abaixo de 0,05, ou seja, revelando diferenças bastante significativas (FIGURA 12). De acordo com o teste, o diâmetro dos tufos é significativamente maior em *O. vulgaris* do que em *A. nodosa*.

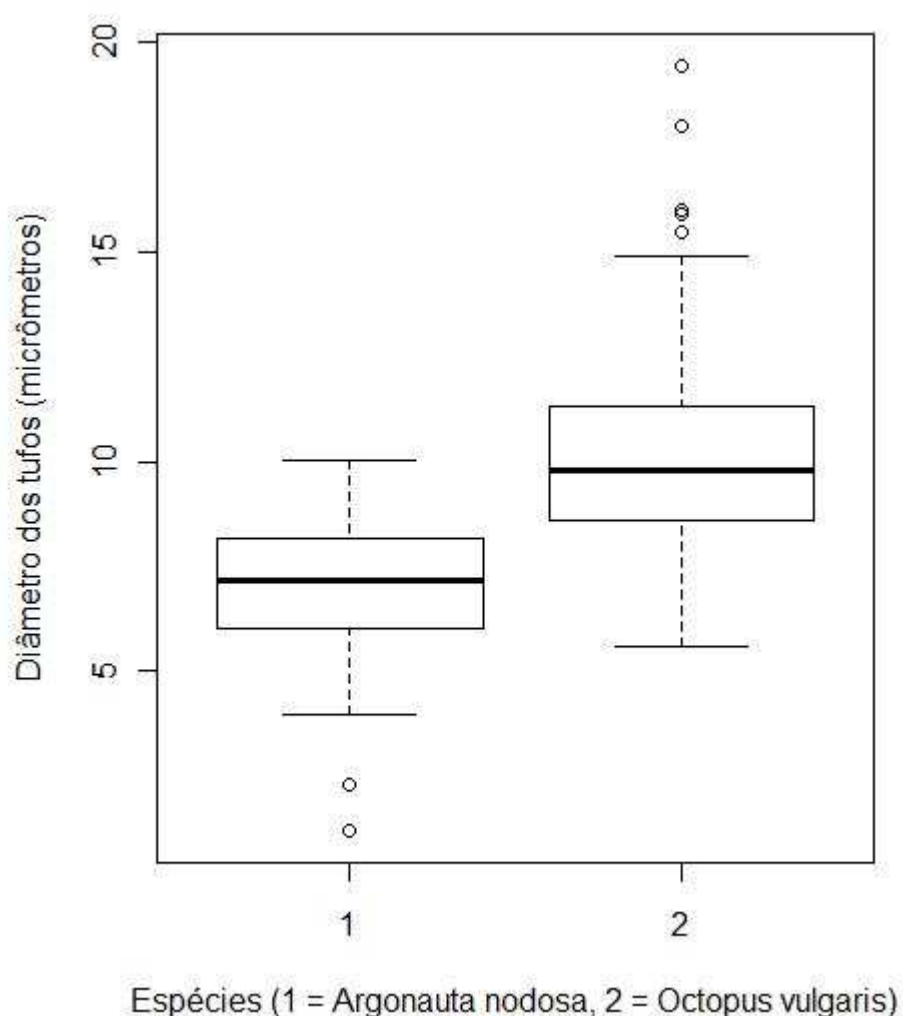


FIGURA 12: Boxplot do teste-t demonstrando diferenças significativas no diâmetro dos tufos dos órgãos de Kölliker entre *Argonauta nodosa* e *Octopus vulgaris* ( $p < 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

Entre as 11 amostras de *Argonauta nodosa* analisadas, apenas quatro apresentaram órgãos de Kölliker visíveis, sendo estas, duas paralarvas de sexo indeterminado (1,0 e 1,3 mm de CM), uma fêmea (2,8 mm de CM) e um macho adulto (5,2 mm de CM). Coincidentemente, estes quatro exemplares foram coletados no início do ano de 2010, enquanto os demais, que não apresentaram os órgãos, foram capturados nas décadas de 80 e 90. Visto que todos os polvos analisados foram fixados em formol 4% neutralizado e este fixador não é o mais indicado para o processamento de MEV (KARNOVSKY, 1965), é bem provável que, nas amostras mais antigas, as paralarvas examinadas tiveram parte de sua epiderme danificada pelo tempo excessivo no fixador formol, impossibilitando a preservação dos órgãos de Kölliker. Por outro lado, nos polvos coletados recentemente, tais estruturas estavam preservadas. Tal fato pode ser evidenciado nas paralarvas de *Octopus vulgaris*, coletadas e fixadas no ano de 2010. Devido ao pouco tempo de fixação, foi possível visualizar os órgãos de Kölliker nas imagens de histologia e MEV de todas as paralarvas utilizadas.

Vários estudos têm demonstrado que a presença dos órgãos de Kölliker está relacionada à fase planctônica dos polvos, desaparecendo após o assentamento (VILLANUEVA & NORMAN, 2008). Cabe salientar, porém, que a presença destas estruturas foi também verificada em um macho adulto de *Argonauta nodosa* (5,2 mm de CM). É interessante notar que os órgãos de Kölliker foram inicialmente descritos em subadultos de *Bolitaena* e *Eledonella*, ambos também polvos pelágicos de tamanho reduzido (ADAM, 1939). Tais observações fortalecem a hipótese de que a função dos órgãos esteja intimamente relacionada à vida no ambiente planctônico, como proposto por Adam (1939). Ainda, pode-se sugerir que uma possível função dos órgãos esteja relacionada à absorção de nutrientes da coluna d'água, através dos movimentos de projeção e retração dos tufos, como vistos por Bolezky (1973). A captura de nutrientes da água do mar, em especial os aminoácidos, é extremamente importante para invertebrados marinhos de corpo mole, pois estes compostos geralmente suprem as necessidades nutricionais da epiderme e de outras estruturas superficiais das fases iniciais do ciclo de vida. Em Cefalópodes, esta capacidade de absorção foi observada pela primeira vez por Castille & Lawrence (1978) em paralarvas de *Octopus* spp., as quais incorporaram aminoácidos e hexoses da água



do mar através da pele. Resultados semelhantes foram observados por de Eguileor *et al.* (2000) em adultos de *Sepia officinalis*, demonstrando que os cefalópodes possuem células epidérmicas com clássicas características absorptivas. Desta maneira, a grande quantidade de órgãos de Kölliker presente na superfície do corpo das paralarvas pode indicar uma estreita relação com a absorção de nutrientes da água do mar, pela possibilidade destes órgãos facilitarem, em teoria, a captação de nutrientes por meio da constante movimentação dos tufos (e.g. abertura/fechamento do tufo).

Parece haver uma diferença na abundância dos órgãos de Kölliker entre as paralarvas de *A. nodosa* e *O. vulgaris*. Através das imagens histológicas, observou-se que o tecido epitelial de revestimento do corpo das paralarvas é mais fino em *A. nodosa* do que em *O. vulgaris*. De certa forma, esta aparente diferença pode estar relacionada à estrutura deste epitélio, onde os órgãos de Kölliker estão inseridos. Por outro lado, a abundância destas estruturas também pode ter relação com os ambientes ocupados por ambas as espécies. Como já mencionado anteriormente, *Argonauta* ocupa a plataforma externa e o talude continental, que são ambientes mais estáveis e menos susceptíveis a variações físico-químicas. Em contrapartida, o polvo comum se distribui em regiões costeiras de águas rasas, onde variações físico-químicas e, principalmente, de salinidade são bem mais acentuadas.

Desta maneira, a maior abundância dos órgãos de Kölliker em *Octopus vulgaris* sugere que estas estruturas poderiam estar relacionadas a um mecanismo de osmorregulação (da SILVA & VIDAL, 2005), já que a variação de salinidade em águas costeiras é bem maior do que em oceano aberto.

Finalmente, as diferenças dos diâmetros dos tufos observadas entre as duas espécies estudadas podem indicar que talvez os órgãos de Kölliker desempenhem um papel mais importante nas paralarvas de *O. vulgaris*, o que explicaria os tufos serem mais robustos e numerosos. Em contrapartida, também existe a possibilidade de que *A. nodosa* apresente órgãos de Kölliker menos espessos, em virtude, por exemplo, de uma maior eficiência dos mesmos nesta espécie ou no ambiente oceânico. De qualquer forma, estas diferenças entre os tufos podem ser reflexo dos diferentes ambientes ocupados pelas espécies, onde polvos costeiros necessitariam de órgãos de Kölliker mais desenvolvidos que os oceânicos, para desempenhar funções ainda desconhecidas.

Além disso, as diferenças entre os diâmetros dos tufos de Kölliker apresentadas neste estudo sugerem que exista uma diminuição dos tufos ao longo da ontogenia em *Argonauta nodosa*. O diâmetro destas estruturas é menor nos maiores indivíduos, sugerindo que os órgãos de Kölliker são mais desenvolvidos e importantes nas fases iniciais do ciclo de vida. Já, em *Octopus vulgaris*, os maiores diâmetros dos tufos foram observados em paralarvas recém eclodidas, seguidas pelas de 15/16 dias e 35/36 dias após a eclosão. Este padrão cíclico, no qual há uma diminuição dos diâmetros seguida por um novo aumento, nos leva a crer que os órgãos de Kölliker são substituídos com o passar dos dias, nascendo novos órgãos durante a fase planctônica, como observado por Villanueva (1995). Os novos tufos surgem com diâmetros menores, os quais tendem a aumentar em comprimento ao longo de seu desenvolvimento, que foi descrito por Brocco *et al.* (1974), no qual novos filamentos são secretados pelo quetoblasto e, através das microvilosidades, são adicionados às cerdas, aumentando os tufos de Kölliker. Porém, neste processo, aparentemente o pico de desenvolvimento dos tufos subseqüentes possui diâmetro menor que os antecessores, apresentando uma tendência decrescente, no qual os órgãos desaparecem completamente após o assentamento do polvo no bentos. A realização das medições foi feita apenas com os tufos que apresentaram as cerdas fechadas e sem danos. Os tufos que estavam abertos ou deformados não foram utilizados na análise estatística.

As lesões nos órgãos de Kölliker observadas nas paralarvas de *Octopus vulgaris* com idade acima de 15 dias podem ter sido causadas durante o cultivo destas em tanques. O mesmo foi observado no estudo de Silva & Vidal (2005), no qual paralarvas de tanques de cultivo com idade superior a 20 dias apresentaram deformações nas extremidades dos braços e, conseqüentemente, nos órgãos de Kölliker, pelo contato excessivo com as paredes dos tanques. Ainda foi observado que estas lesões causaram a morte de muitas paralarvas, por prejudicar a capacidade de captura de alimento com os braços. Além disso, Silva & Vidal (2005) observaram que paralarvas de 30 dias apresentaram a epiderme totalmente lesionada, sem os órgãos de Kölliker. Tais resultados representam fortes evidências de que estas estruturas devem desempenhar uma função vital para a sobrevivência dos polvos, como por exemplo, a osmorregulação.

## 6 CONCLUSÃO

Ainda que a função dos órgãos de Kölliker permaneça desconhecida, o presente estudo revelou resultados inéditos no que se refere à morfologia destas estruturas. A presença de variabilidade no diâmetro destes órgãos entre as espécies avaliadas, bem como a ocorrência de variabilidade no diâmetro dos tufos ao longo do desenvolvimento dentro de uma mesma espécie, demonstradas no presente estudo, servirão para alimentar o banco de informações sobre estas enigmáticas estruturas, que claramente desempenham uma importante função biológica, visto a grande abundância destes órgãos na epiderme das paralarvas dos polvos. Ainda neste sentido, os resultados deste estudo deixaram claro que os órgãos de Kölliker podem ter uma morfologia ligeiramente distinta em função das espécies estudadas ou ambientes de ocorrência das mesmas.

A grande escassez de trabalhos relacionados a este tema mantém limitadas as informações que possibilitem o entendimento destas estruturas. No entanto, a partir de novos estudos comparando diversas espécies, sexos, tamanhos e fases do ciclo de vida dos polvos, será possível chegar a um resultado satisfatório e que revele as funções dos órgãos de Kölliker. Esta informação é imprescindível para um melhor entendimento da ecologia e biologia destes animais, fatores fundamentais para o manejo e gerenciamento dos polvos no meio ambiente, além do desenvolvimento de tecnologias que permitam seu cultivo, ainda limitado pelas elevadas taxas de mortalidade das paralarvas. Neste sentido, este trabalho fornece evidências de que o ambiente de cultivo possa danificar a estrutura dos órgãos de Kölliker e comprometer sua importante função, o que poderia explicar, pelo menos parcialmente, as altas taxas de mortalidade observadas durante o cultivo das paralarvas.

## REFERÊNCIAS

- ADAM, W. (1939). A propos des organes épitheliaux (Köllikersche Büschel) chez une larve d'Octopode. **Mémoires du Musée Royal d'Histoire Naturelle de Belgique** 2<sup>o</sup> Série 15, 123-134.
- BOLETZKY, S.v. (1966). Zum Schlüpfen von *Octopus vulgaris* Lam. Verhandlungen der **Naturforschenden Gesellschaft** 77, 165-170.
- BOLETZKY, S.v. (1973). Structure and function of the Kölliker organs in young octopods (Mollusca, Cephalopoda). **Zeitschrift für Morphologie der Tiere** 75, 315-327.
- BROCCO, S.L.; O'CLAIR, R.; CLONEY, R.A. (1974). Cephalopod integument: the ultrastructure of Kölliker's organs and their relationship to setae. **Cell and Tissue Research** 151, 293-308.
- CASTILLE, P.L.; LAWRENCE, A.L. (1978). Uptake of amino acids and hexoses from sea water by octopus hatchlings. **Physiologist** 21, 4.
- CLARKE, M.R.; LU, C.C. (1975). Vertical distribution of cephalopods at 18°N 25°W in North Atlantic. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 55, 165-182.
- DA SILVA, L.B.; VIDAL, E.A.G. (2005). Caracterización histológica de lesiones en los brazos de paralarvas del pulpo común (*Octopus vulgaris*) cultivadas en laboratorio. In: XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Viña del Mar.
- DE EGUILEOR, M.; LEONARDI, M.G.; GRIMALDI, A.; TETTAMANTI, G.; FIANDRA, L.; GIORDANA, B.; VALVASSORI, R.; LANZAVECCHIA, G. (2000). Integumental amino acid uptake in a carnivorous predator mollusc (*Sepia officinalis*, Cephalopoda). **Tissue Cell** 32, 389-398.
- DE GROOT, S.J. (1995). Edible species. In: Ruiter, A. (Ed.), Fish and Fishery Products: Composition, Nutritive Properties and Stability. CAB International, UK, 31-76.
- DIEKMANN, R.; PIATKOWSKI, U.; SCHNEIDER, M. (2002). Early life and juvenile cephalopods around seamounts of the subtropical eastern North Atlantic: illustrations and a key for their identification. **Berichte aus dem Institut für Meereskunde an der Christian-Albrechts-Universität, Kiel** 326, 1-42.
- FINN, J.K.; NORMAN, M.D. (2010). The argonaut shell: gas-mediated buoyancy control in a pelagic octopus. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** 277:1696, 2967-2971.

- FIORONI, P. (1962). Die embryonale Entwicklung der Kollikerschen Organe von *Octopus vulgaris* Lam. **Revue Suisse de Zoologie** 69, 497-511.
- GREEN, M.G. (1973). **Taxonomy and distribution of planktonic octopods in the Northeastern Pacific**. Master's thesis, College of Fisheries, University of Washington, Seattle.
- GRZIMEK, B. (1972). **The Cephalopods**. Volume 3, 217-225. In: B. Grzimek, M. Abs, S. Ali, R. Altevoigt, R. Angermann, eds. Grzimek's Animal Life Encyclopedia. New York, New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- HANLON, R.T.; MESSENGER, J.B. (1996). **Cephalopod Behaviour**. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- HOCHBERG, F.G.; NIXON, M.; TOLL, R.B. (1992). Order Octopoda Leach 1818. **Smithsonian Contributions to Zoology** 513, 213-280.
- IGLESIAS, J.; SÁNCHEZ, F.J.; BERSANO, J.G.F.; CARRASCO, J.F.; DHONT, J.; FUENTES, L.; LINARES, F.; MUÑOZ, J.L.; OKUMURA, S.; ROO, J.; VAN DER MEEREN, T.; VIDAL, E.A.G.; VILLANUEVA, R. (2007). Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: present status, bottlenecks and trends. **Aquaculture** 266, 1-15.
- IGLESIAS, J.; SÁNCHEZ, F.J.; OTERO, J.J.; MOXICA, C. (2000). Culture of octopus (*Octopus vulgaris*): present knowledge, problems and perspectives. In: Seminar of the Centre International des Hautes Études Agronomiques Méditerranéennes, Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean on "Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification". Cahiers Options **Méditerranéennes** 47, 313-322.
- KARNOVSKY, M.J. (1965). A Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology** 27, 137-138.
- KÖLLIKER, A. (1844). **Entwicklungsgeschichte der Cephalopoden**. Zürich: Meyer und Zeller.
- KUBODERA, T.; OKUTANI, T. (1981). **The systematics and identification of larval cephalopods from the Northern North Pacific**. Research Institute of the North Pacific Fisheries, Hokkaido University Special Volume, 131-159.
- MANGOLD, K. (1983). *Octopus vulgaris*. In Cephalopod Life Cycles. Volume I. Species Accounts, P.R. Boyle (ed.). London: Academic Press, 335-364.
- MANGOLD, K. (1997). *Octopus vulgaris*: Review of the biology. In: Lang, M. A.; Hochberg, F. G. (eds.) Proceedings of the workshops on: The fishery and market potential of Octopus in California. Smithsonian Institution, Washington. 84-90.
- MANGOLD-WIRZ, K. (1963). Biologie des Céphalopodes benthiques et nectoniques de la mer catalane. **Vie Milieu**, Suppl. 13, 1-285.

- MANGOLD, K.; BOLETZKY, S.v. (1973). New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. **Marine Biology** 19, 7-12.
- MANGOLD, K.; BOLETZKY, S.v. (1988). Mediterranean cephalopod fauna, 315-330. In M. R. Clarke, and E. R. Trueman (ed.), The mollusca, vol. 12. Paleontology and neontology of cephalopods. Academic Press, San Diego.
- MANGOLD, K.; BOLETZKY, S.v.; FRÖSCH, D. (1971). Reproductive biology and embryonic development of *Eledone cirrhosa* (Cephalopoda, Octopoda). **Marine Biology** 8, 109-117.
- NAEF, A. (1923). **Die Cephalopoden**. Monographie 35, Volume I, Parts I and II, Systematik, Fauna e flora del Golfo di Napoli, translated by A. Mercado, 1972. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations.
- NESIS, K.N. (1987). **Cephalopods of the World**. Neptune City, New Jersey: T.F.H. Publications.
- NIXON, M.; YOUNG, J.Z. (2003). **The Brains and Lives of Cephalopods**. Oxford, U.K.: Oxford University Press.
- NORMAN, M. (2003). Cephalopods of the world: A world Guide. ConchBooks, Hakenheim, Germany. In: E. A. G. Vidal, L. Fuentes, L. B. da Silva. 2010. Defining *Octopus vulgaris* populations: A comparative study of the morphology and chromatophore pattern of paralarvae from Northeastern and Southwestern Atlantic. **Fisheries Research** 106, 199-208.
- ORTIZ, N.; RÉ, M.A.; MÁRQUEZ, F. (2006). First description of eggs, hatchlings and hatchling behaviour of *Enteroctopus megalocyathus* (Cephalopoda: Octopodidae). **Journal of Plankton Research** 28, 881-890.
- ROSENBLUM, E. (1995). Octopus. 67-68. In: L. Bloomfield, C. Waff, T. Zinn, S. Mage, P. Quigley, eds. Collier's Encyclopedia. New York, New York: Collier's.
- UNDERWOOD, A.J. (1997). **Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance**. Cambridge University Press, Cambridge.
- VAZ-PIRES, P.; SEIXAS, P.; BARBOSA, A. (2004). Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1979): a review. **Aquaculture** 238, 221-238.
- VIDAL, E.A.G.; HAIMOVICI, M.; HACKBART, V.C.S. (2010). Distribution of paralarvae and small juvenile cephalopods in relation to primary production in an upwelling area off southern Brazil. **ICES Journal of Marine Science** 67, 1346-1352.
- VILLANUEVA, R. (1995). Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 52, 2639-2650.

- VILLANUEVA, R.; NORMAN, M.D. (2008). Biology of the planktonic stages of benthic octopuses. **Oceanography Marine Biol.: Annu. Rev.** 46, 105-202.
- WU, N. (1989). **The Paper Nautilus**. Sea Frontiers, March-April, 1989: 94-96.
- YOUNG, R.E.; HARMAN, R.F. (1988). "Larva", "Paralarva" and "Subadult" in cephalopod terminology. **Malacologia** 29, 201-207.